

蝉蜕配方颗粒

Chantui Peifangkeli

【来源】 本品为蝉科昆虫黑蚱 *Cryptotympana pustulata* Fabricius 的若虫羽化时脱落的皮壳经炮制并按标准汤剂的主要质量指标加工制成的配方颗粒。

【制法】 取蝉蜕饮片 6000g，加水煎煮，滤过，滤液浓缩成清膏（干浸膏出膏率为 2%~6%），加入辅料适量，干燥（或干燥，粉碎），再加入辅料适量，混匀，制粒，制成 1000 g，即得。

【性状】 本品为浅灰色至灰褐色的颗粒；气微，味淡。

【鉴别】 取本品 0.5g，研细，加 1%碳酸氢铵溶液 25ml，超声处理 30 分钟，用微孔滤膜滤过，取续滤液 1ml，置进样瓶中，加胰蛋白酶溶液 100 μ l（取序列分析用胰蛋白酶，加 1%碳酸氢铵溶液制成每 1ml 中含 1mg 的溶液，临用时配制），摇匀，37℃恒温酶解 12 小时，作为供试品溶液。另取蝉蜕对照药材 0.5g，加 1%碳酸氢铵溶液 25ml，加热回流 30 分钟，放冷，自“用微孔滤膜滤过”起，同法制成对照药材溶液。照高效液相色谱法-质谱法（中国药典 2020 年版通则 0512 和通则 0431）试验，以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为 100mm，内径为 2.1mm，粒径为 1.6~1.8 μ m）；以乙腈为流动相 A，以 0.2%甲酸溶液为流动相 B，按下表 7-1 中的规定进行梯度洗脱；流速为每分钟 0.3ml。采用质谱检测器，电喷雾正离子模式（ESI⁺），进行多反应监测（MRM），选择质荷比（m/z）530.8（双电荷） $\rightarrow$ 632.3 和 m/z 530.8（双电荷） $\rightarrow$ 761.4 作为检测离子对。取蝉蜕对照药材溶液，进样 2 μ l，按上述检测离子对测定的 MRM 色谱峰的信噪比均应大于 3:1。

表 7-1 梯度洗脱表

时间（分钟）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
0~12	10	90
12~13	10 $\rightarrow$ 80	90 $\rightarrow$ 20
13~16	80	20

吸取供试品溶液 2 μ l，注入高效液相色谱-质谱联用仪，测定。以质荷比（m/z）530.8（双电荷） $\rightarrow$ 632.3 和 m/z 530.8（双电荷） $\rightarrow$ 761.4 离子对提取的供试品离子流色谱中，应同时呈现与对照药材色谱保留时间一致的色谱峰。

【特征图谱】 氨基酸类 照高效液相色谱法（中国药典 2020 年版通则 0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 同氨基酸类[含量测定]项。

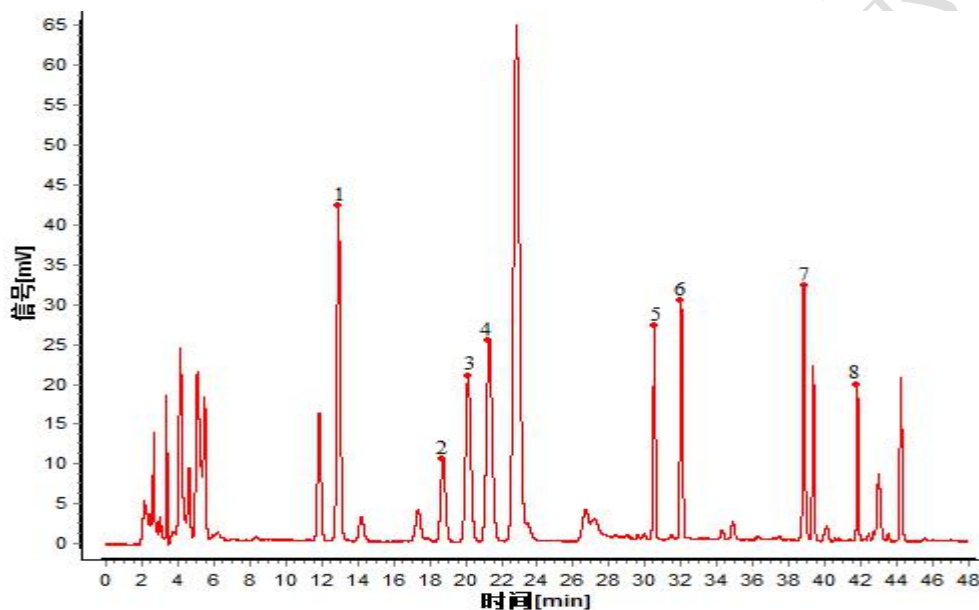
参照物溶液的制备 取氨基酸类[含量测定]项下的对照品溶液，作为对照品参照物溶液。另取苏氨酸对照品、酪氨酸对照品、缬氨酸对照品、L-异亮氨酸对照品适量，精密称定，加 0.1mol/L 盐酸溶液制成每 1ml 各含 50 μ g 的混合溶液，作为对照品参照物溶液。

供试品溶液的制备 取氨基酸类[含量测定]项下供试品溶液，即得。

精密量取上述参照物溶液和供试品溶液各 5ml，分别置 25ml 量瓶中，各加 0.1mol/L 异硫氰酸苯酯（PITC）的乙腈溶液 2.5ml，1mol/L 三乙胺的乙腈溶液 2.5ml，摇匀，室温放置 1 小时后，加 50%乙腈至刻度，摇匀。取 10ml，加正己烷 10ml，振摇，放置 10 分钟，取下层溶液，滤过，取续滤液，即得。

测定法 分别精密吸取衍生化后的参照物溶液与供试品溶液各 5 μ l，注入液相色谱仪，测定，即得。

供试品溶液色谱中应呈现 8 个特征峰，且峰 1~峰 8 应分别与相应对照品参照物峰保留时间相对应。



峰 1: 甘氨酸; 峰 2: 苏氨酸; 峰 3: 丙氨酸; 峰 4: 脯氨酸;
峰 5: 酪氨酸; 峰 6: 缬氨酸; 峰 7: L-异亮氨酸; 峰 8: 苯丙氨酸

图 7-1 蝉蜕配方颗粒对照特征图谱 1

参考色谱柱: Kromasil 100-5 C18; 250mm $\times$ 4.6mm, 5 μ m

其他 照高效液相色谱法（中国药典 2020 年版通则 0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 同乙酰多巴胺二聚体[含量测定]项。

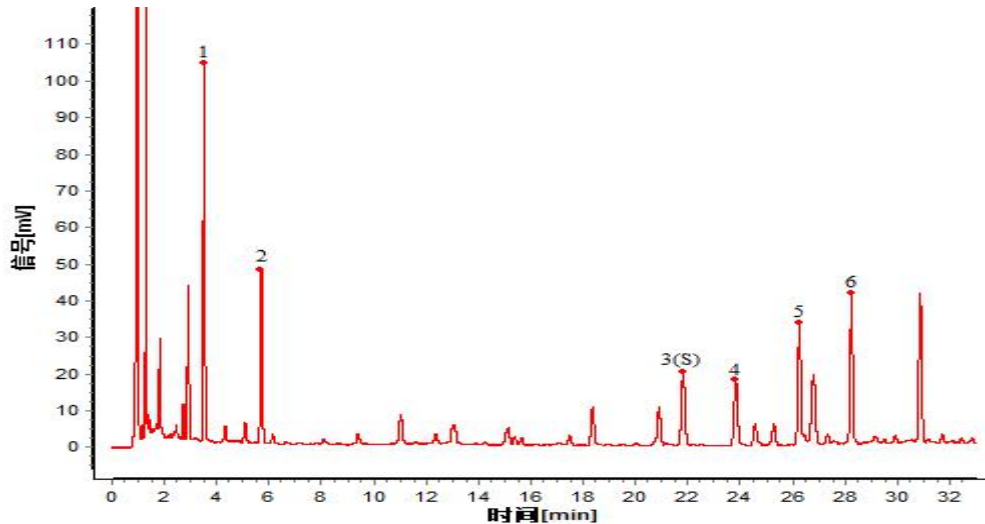
参照物溶液的制备 取蝉蜕对照药材 1g，置于具塞锥形瓶中，加 70%甲醇 50ml，加热回流 30 分钟，放冷，离心（转速为每分钟 4000 转）5 分钟，取上清液 25ml 置蒸发皿中，蒸干，残渣加 70%甲醇使溶解并转移至 5ml 量瓶中，加 70%甲醇至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，作为对照药材参照物溶液。另取原儿茶酸对照品、原儿茶醛对照品、乙酰多巴胺二聚体对照品适量，精密称定，加 50%甲醇制成每 1ml 含原儿茶酸 20 μ g、原儿茶醛 10 μ g、乙酰多巴胺二聚体 15 μ g 的混合溶液，作为对照品参照物溶液。

供试品溶液的制备 同乙酰多巴胺二聚体[含量测定]项。

测定法 分别精密吸取参照物溶液与供试品溶液各 2 μ l，注入液相色谱仪，测定，即

得。

供试品溶液色谱中应呈现 6 个特征峰，并应与对照药材参照物色谱中的 6 个特征峰保留时间相对应，其中峰 1、峰 2、峰 3 应分别与相应对照品参照物峰保留时间相对应，与乙酰多巴胺二聚体参照物相应的峰为 S 峰，计算各特征峰与 S 峰的相对保留时间，其相对保留时间应该在规定值的 $\pm 10\%$ 之内，规定值为：1.09（峰 4）、1.20（峰 5）、1.29（峰 6）。



峰 1：原儿茶酸；峰 2：原儿茶醛；峰 3（S）：乙酰多巴胺二聚体；

图 7-2 蝉蜕配方颗粒对照特征图谱 2

参考色谱柱：SB C18；2.1mm $\times$ 150mm，1.8 μ m

【检查】 应符合颗粒剂项下有关的各项规定（中国药典 2020 年版通则 0104）。

【浸出物】 取本品研细，取约 2g，精密称定，精密加入乙醇 100ml，照醇溶性浸出物测定法（中国药典 2020 年版通则 2201）项下的热浸法测定，不得少于 5.0%。

【含量测定】 氨基酸类 照高效液相色谱法（中国药典 2020 年版通则 0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为 250mm，内径为 4.6mm，粒径为 5 μ m）；以乙腈-水（4:1）为流动相 A，以 0.1mol/L 醋酸钠溶液（用醋酸调节 pH 值至 6.5）-乙腈(93:7)为流动相 B；按下表中的规定进行梯度洗脱；流速为每分钟 1.0ml；柱温为 30 $^{\circ}$ C；检测波长为 254nm。理论板数按丙氨酸峰计算应不低于 4000。

表 7-2 梯度洗脱表

时间（分钟）	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~9	0 $\rightarrow$ 3	100 $\rightarrow$ 97
9~22	3	97
22~23	3 $\rightarrow$ 17	97 $\rightarrow$ 83
23~32	17 $\rightarrow$ 18	83 $\rightarrow$ 82
32~38	18 $\rightarrow$ 30	82 $\rightarrow$ 70
38~45	30 $\rightarrow$ 34	70 $\rightarrow$ 66
45~47	34 $\rightarrow$ 100	66 $\rightarrow$ 0
47~55	100	0

对照品溶液的制备 取甘氨酸对照品、丙氨酸对照品、脯氨酸对照品、苯丙氨酸对照

品适量，精密称定，加 0.1mol/L 盐酸溶液制成每 1ml 含甘氨酸 60 μ g、丙氨酸 50 μ g、脯氨酸 80 μ g、苯丙氨酸 25 μ g 的混合溶液。

供试品溶液的制备 取本品适量，研细，取约 0.5g，精密称定，置于具塞水解管中，精密加入 6mol/L 盐酸溶液 15ml，密塞，称定重量，150℃水解 3 小时，取出，放冷，再称定重量，用 6mol/L 盐酸溶液补足减失重量，混匀，滤过，精密量取 10ml 滤液移蒸发皿中，蒸干，残渣加 0.1mol/L 盐酸溶液溶解，转移至 25ml 量瓶中，加 0.1mol/L 盐酸溶液至刻度，摇匀，即得。

精密量取上述对照品溶液和供试品溶液各 5ml，分别置 25ml 量瓶中，各加 0.1mol/L 异硫氰酸苯酯（PITC）的乙腈溶液 2.5ml、1mol/L 三乙胺的乙腈溶液 2.5ml，摇匀，室温放置 1 小时后，加 50%乙腈至刻度，摇匀。取 10ml，加正己烷 10ml，振摇，放置 10 分钟，取下层溶液，滤过，取续滤液，即得。

测定法 分别精密吸取衍生化后的对照品溶液与供试品溶液各 5 μ l，注入液相色谱仪，测定，即得。

本品每 1g 含甘氨酸（ $C_2H_5NO_2$ ）应为 2.3mg~10.7mg、丙氨酸（ $C_3H_7NO_2$ ）应为 1.5mg~9.5mg、脯氨酸（ $C_5H_9NO_2$ ）应为 3.7mg~15.2mg、苯丙氨酸（ $C_{10}H_{13}NO_2$ ）应为 0.8mg~4.8mg。

乙酰多巴胺二聚体 照高效液相色谱法（中国药典 2020 年版通则 0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为 150mm，内径为 2.1mm，粒径为 1.6~1.8 μ m）；以乙腈为流动相 A；以 0.2%甲酸溶液为流动相 B，按下表中的规定进行梯度洗脱；流速为每分钟 0.35ml；柱温为 35℃；检测波长为 280nm；理论板数按乙酰多巴胺二聚体峰计算应不低于 5000。

表 7-3 梯度洗脱表

时间（分钟）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
0~7	6→8	94→92
7~10	8→11	92→89
10~22	11→15	89→85
22~32	15→23	85→87
32~35	23→90	87→10
35~38	90	10

对照品溶液的制备 取乙酰多巴胺二聚体对照品适量，精密称定，加甲醇制成每 1ml 含 30 μ g 的溶液。

供试品溶液的制备 取本品适量，研细，取约 0.5g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 70%甲醇 50ml，称定重量，超声处理（功率 300W，频率 40kHz）30 分钟，放冷，再称定重量，用 70%甲醇补足减失的重量，离心（转速为每分钟 4000 转）5 分钟，取上清液 25ml 置蒸发皿中，蒸干，残渣加 70%甲醇使溶解并转移至 5ml 量瓶中，加 70%甲醇至

刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 2 μ l，注入液相色谱仪，测定，即得。

本品每 1g 含乙酰多巴胺二聚体（ $C_{20}H_{22}N_2O_6$ ）应为 0.55mg~2.80mg。

【规格】 每 1g 配方颗粒相当于饮片 6g。

【贮藏】 密封。